

審査の結果の要旨

氏名 宮寄 英世

本研究は、ヒトアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞 PC-3, DU-145 細胞の増殖における BMP シグナルの機能について検討したものであり、下記の結果を得ている。

- (1) ヒト前立腺癌細胞である LNCaP, PC-3, DU-145 細胞における BMP のシグナル伝達因子の発現を RT-PCR 法を用いて検討した。アンドロゲン非依存性前立腺癌細胞においても BMP シグナルを伝達するのに必要なシグナル伝達因子を発現しているということが明らかになった。
- (2) PC-3, DU-145 細胞に対して BMP-7 を 1% および 10% 胎児牛血清存在下において作用させ、細胞内シグナル伝達因子 Smad1/5 のリン酸化、BMP の標的遺伝子 Id-1 の発現誘導について Western blot 法を用いて検討したところ、どちらの条件でも Smad1/5 のリン酸化および Id-1 の発現誘導がおこることが明らかとなった。さらにその Smad リン酸化、Id-1 発現誘導は 10% 胎児牛血清存在下においては 1% 胎児牛血清存在下よりそのレベルが低かった。
- (3) PC-3, DU-145 細胞に対して 1% 牛血清存在下において BMP-7 を作用させたところ、 $[^3\text{H}]$ -チミジン取り込みアッセイおよび細胞数の測定により、細胞増殖抑制効果を認めた。PC-3 細胞を用いた Western blot 法、Realtime PCR 法により BMP-7 で刺激すると p21^{CIP1/WAF1} の発現が上昇していることを明らかにした。さらにその下流として Cdk2 のキナーゼ活性の抑制、Rb タンパクのリン酸化の抑制が増殖抑制のメカニズムであることを明らかにした。
- (4) さらに *in vivo* での BMP シグナルの効果を明らかにするため、PC-3 細胞にテトラサイクリン発現誘導システムを導入し、テトラサイクリン/ドキシサイクリンによる制御で恒常活性型の BMP IB 型受容体を発現する細胞株を樹立した。ヌードマウスに注射して皮下に腫瘍を形成させたところ、恒常活性型の BMP IB 型受容体を発現させると腫瘍形成の速度の減少を認めた。

以上、本論文ではアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞 PC-3, DU-145 細胞においても BMP シグナルが伝達され、その増殖を抑制することを *in vitro* および *in vivo* にて示した。10%胎児牛血清存在下において、アンドロゲン依存性前立腺癌細胞の LNCaP 細胞を BMP 刺激すると増殖抑制効果が認められるが、アンドロゲン非依存性前立腺癌細胞の PC-3, DU-145 細胞を BMP 刺激しても増殖抑制効果が認められないとの報告があったが、今回血清濃度を変えることで悪性度が高いと考えられるアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞においても BMP シグナルが伝達されることおよびその増殖抑制機構を明らかにした。以上、前立腺癌における BMP シグナルの役割の解明に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。